

İnek Kolostrumunun Sıçanlarda Kimi Cinsel Etkinlikler Üzerine Etkisi. II. İnek Kolostrumunun Infantil Sıçanlarda Ovarium'da Follikülasyon Oluşturma İşlevi Üzerinde Çalışmalar

Hazım GÖKÇEN*
Aytekin ÖZER*
Leyla GÜREŞÇİ**
Lütfi ÖZGÜR***
Kemal SOYLU****

ÖZET

İnek kolostrumunun ovarium'larda follikülasyon oluşturma işlevinin denemesini amaçlayan bu çalışmada 22 günlük 10 infantil dişi deneme sıçanına deri altı 0.2 cc inek kolostrumu, 5 infantil dişi kontrol sıçanına da aynı yolla 0.2 cc serum fizyolojik enjekte edildi.

Enjeksiyondan 5 gün sonra öldürülen sıçanların ovarium'larından yapılan seri kesitlerden hazırlanan preparatlarda, kolostrum enjekte edilen sıçanların ovarium'larında, kolostrum enjekte edilmeyenlere nazaran yaklaşık 2 kat fazla sayıda Graff follikülünün geliştiği gözlemlendi.

SUMMARY

The Effects of Cow Colostrum on Some of the Sexual Activities in Rats II. Studies on the Effects of Cow Colostrum in Folliculation Activities of Infantile Rats

In this study, an experimental production of folliculation with cow colostrum 10 infantile female rats at 22 days of age were injected with 0.2 cc of cow colostrum. 5 control rats received 0.2 cc of physiological serum only by the same route. Five

* Doç. Dr.; U.Ü. Veteriner Fakültesi, Bursa — TÜRKİYE

** Doç. Dr.; U.Ü. Tıp Fakültesi, Bursa — TÜRKİYE

*** Vet. Hek.; U.Ü. Tıp Fakültesi, Bursa — TÜRKİYE

**** Araş. Gör.; U.Ü. Veteriner Fakültesi, Bursa — TÜRKİYE

days after the injections rats were killed and serial ovarium sections were prepared. Double sized follicul development were seen in rats injected with cow colostrum comparing those control animals.

GİRİŞ

Daha önce yaptığımız bir çalışmada², inek kolostrumu enjekte edilen erişkin sıçanlarda, enjeksiyondan 5 gün sonra kızgınlığın oluştuğunu saptamıştık. Anılan çalışmada kızgınlığın (östrusun) ve öteki siklus evrelerinin tesbitinde vaginal akıntı (vaginal smear)'nin histolojik bakısına başvurulmuştu. O çalışmanın bir devamı olarak, infantil sıçanlarda vaginadan smear almanın olanaksızlığı yüzünden bu çalışmada kolostrum enjeksiyonunun kızgınlığı oluşturma işlevini, ovarium'lardaki follikülasyonun gelişimine bakarak saptamak denemiştir.

Ovarium'larda folliküllerin gelişiminin çokluk gonadotropinlerin etkisiyle oluştuğu bilinmektedir. Gonadotropik Kompleks hormonları içinde FSH'nın ovariumlar'a etkiyerek, doğal olarak primordial folliküllerden, gelişen (sekunder) folliküllere değişim sürecini ileriye götürerek, ovipar hayvanlarda bir tek, multipar hayvanlarda ise birden çok tersiyer ve Graff follikülünü, dolayısıyla ovumu oluşturduğu endokrinolojik bilgiler arasındadır³. Ayrıca, prostaglandin'lerin de FSH ile negatif feedback oluşturan progesteron'un salgılandığı Corpus luteum'un luteolysisi sağlamak suretiyle, progesteronun FSH üzerindeki baskısını kaldırarak folliküler gelişime yardımcı olduğu da malumdur³. İşte bu çalışmada içinde doğal olarak gonadotropinler ve prostaglandin'ler taşıdığı bilinen inek kolostrumunun infantil dişi sıçanlarda kızgınlık oluşturup oluşturmadığının ovarium'da follikülasyonun varlığı ile saptamak amaçlanmıştır.

İnek kolostrumunun sıçanların ovarium'larında follikülasyon oluşturma işlevi konusunda literatürde herhangi bir çalışmaya rastlanmadı.

MATERYAL ve METOT

Hayvan Materyali: Bu çalışmada Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Tıbbi Araştırma ve Uygulama Merkezinde inbred olarak yetiştirilen ortalama 60 gr. ağırlığındaki 22 günlük 15 adet infantil dişi beyaz sıçan (Rat Rattus Norvegicus L. Albino, Bursa) kullanılmıştır. Sıçanlardan 10'u deneme grubu, 5'i de kontrol grubu olarak tesadüfen ayrılmışlardır. Kontrol ve deneme grubu sıçanlara denemeye alınmadan önce kulak numarası verilmiş ve teker teker tartılmışlardır. Kontrol ve deneme grubu sıçanlar ayrı kafeslere konulmuşlar ve sanayi yemi ile beslenmişlerdir. Hayvanlar deneme öncesinde ve deneme sırasında standart bir ortamda bulundurulmuşlardır.

Kolostrum'un Elde Edilmesi: Kolostrum doğumunu normal olarak yapmış, sonunu 2. veya en geç 3. saatte atmış, memelerinde yangısal bozukluk bulunmayan ineklerden, steril bir şişeye süzülerek alındı. Elde edilen kolostrum'un her litresine 1 gr. Streptomisin ve 1 milyon İ.Ü. Penisilin katıldı. Genellikle kullanılmadan bir gün önce taze olarak alınan kolostrum enjeksiyona kadar buzdolabında bekletildi.

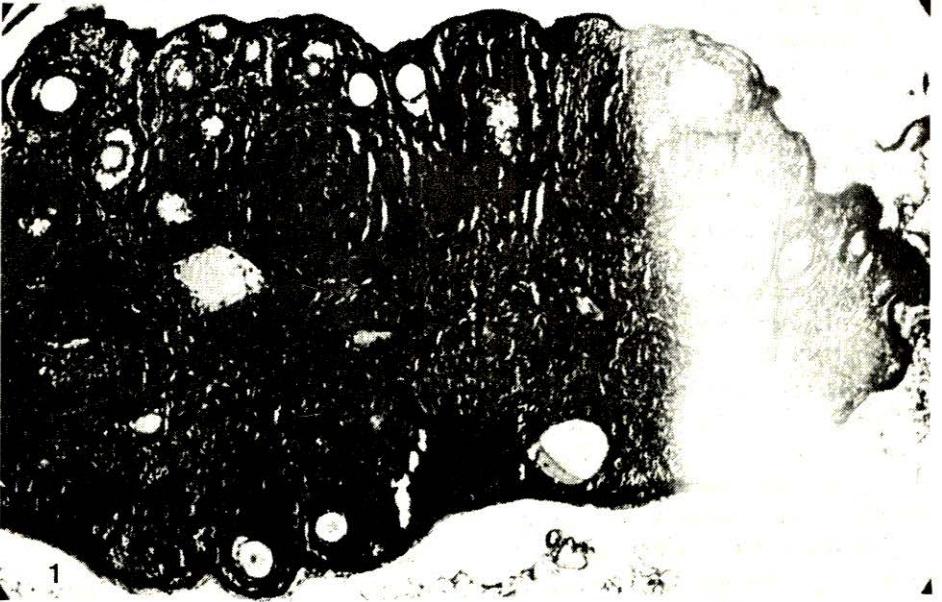
Denemenin Uygulanması: Denemenin başlangıcında deneme grubundaki infantil sıçanlara 0.2 cc inek kolostrumu deri altı yolla enjekte edildi. Kontrol grubu

sıçanlara da aynı miktar serum fizyolojik yine aynı yolla verildi. Kolostrum ve serum fizyolojik enjeksiyonunu takiben 5. günde deneme ve kontrol grubundaki sıçanlar dekapite edilerek öldürüldüler. Öldürülen sıçanların laparotomi ile karın boşlukları açılarak uterus, kornu uteri'ler ve ovarium'lar makroskopik olarak ve bir büyüteç yardımıyla incelenip karşılıklı olarak mukayese edildiler. Aynı zamanda mikroskopik bakı için ovariektomi ile çıkarılan ovarium'lardan seri kesitler yapıp, preparatlar hazırlandı ve hematoksilin-eosin boyası ile boyandılar. Boyanan preparatlar mikroskopta tetkik edilip değerlendirilecek kalitede olanlardan, deneme grubundaki sıçanlardan seçilen 15 preparat ve kontrol grubundaki sıçanlardan seçilen 15 preparatta Graff folliküllerinin sayıları saptandı. Ayrıca ilginç bulunan preparatların da resimleri çekildi.

BULGULAR

Deneme ve kontrol gruplarındaki sıçanlara kolostrum ve serum fizyolojik enjekte edilip 5 gün sonra ovariektomi ile alınan ovariumlarından seri kesitler yapılarak hazırlanan preparatların histolojik bakıları ve Graff folliküllerinin sayımı yapıldı.

İnfanıl sıçanların ovarium'larından alınan seri kesitlerde içte substantia medullaris (medulla) ile dışta medullayı hilusa kadar saran Substantia corticalis (cortex) belirgin olarak ayırdedilmektedir (Resim: 1, 2). Medulla, kollagen demetlerden ve elastik ağlardan yapılmış oldukça sıkı bir bağ dokusu içinde, kıvrıntılı seyreden ve sık sık dallanan birçok kan damarlarını, lenf damarlarını, kalın sinir demetlerini ve



Resim: 1
Kontrol grubundaki bir sıçanın ovaryum kesiti



2

Resim: 2

Kolostrum enjekte edilen deneme sıçanının ovaryum kesiti

hilus yakınında tek tük düz kas liflerini içerir. Ayrıca medulla'da interstisiyel hücrelerde görülmektedir. Resimlerden de görüldüğü gibi kortekste, stroma içinde değişik gelişim safhasındaki folliküller yuvarlanmıştır. Ovarium follikülleri iri bir oocyte ile bunu çevreleyen follikül epitelinden yapılmış yuvarlak oluşumlardır. Kontrol ve deney hayvanlarının ovarium kesitlerinde farklı gelişim safhalarında bulunan 3 tip follikül ayırdedilmektedir. Bunlar primer follikül, sekonder follikül, Graff follikülü'dür. Primer folliküller en küçük ve en çok olan folliküllerdir ve ovarium'un periferinde bulunurlar. Ortada iri yuvarlak bir oocyte ile onu çeviren tek sıra yassı epitel hücrelerinden yapılmıştır¹.

Primer folliküllerin gelişmesi ile oluşan sekonder folliküller korteksin periferik kısımlarından çeri tabakalara doğru yer değiştirmişlerdir. Follikülü çeviren çok katlı epitel tabakaları arasında küçük, sıkıca yan yana duran poligonal hücreler granüllü görünümüleri ile Stratum granulosum'u oluşturmuşlardır. Folliküllerin bağ dokusu kılıfı theca follikülü'de belirgindir (Resim: 1, 2). Sekonder folliküllerin gelişmesi sonucu Stratum granulosum hücreleri arasında follikül sıvısı ile dolu, büyük bir boşluk halini alan Graff follikülleri görülmektedir. Graff follikülünde oocyte follikülün bir tarafında, Stratum granulosum hücreleri ile çevrili olarak ekzantirik durur ve bulunduğu kısım Cavum follikülü'ye doğru çıkıntı yapar. Oocyte'ten geri kalan kısım 4-5 sıra poligonal hücreden ibarettir.

Kontrol ve deney hayvanlarının ovarium'larının bu benzer histolojik genel görünümüleri dışında kayda değer bulgu, kontrole kıyasla kolostrum enjekte edilmiş infantil diş sıçanlarda sekonder oositlerin ve Graff folliküllerinin sayılarında görülen artmadır (Resim: 2, Tablo: 1).

Tablo: I
Kontrol ve Kolostrum Enjekte Edilmiş Deneme Sıçanlarının
Ovarium'larında Graff Folliküllerinin Sayısı

ARAŞTIRMA GRUPLARI			
KONTROL GRUBU		DENEME GRUBU	
Preparat No:	Graff Follikülü Sayısı	Preparat No:	Graff Follikülü Sayısı
1	1	1	1
2	4	2	7
3	3	3	5
4	4	4	5
5	5	5	7
6	1	6	4
7	2	7	7
8	1	8	7
9	5	9	8
10	4	10	7
11	3	11	4
12	1	12	3
13	3	13	7
14	3	14	7
15	4	15	5
ORTALAMA	3	ORTALAMA	5.7

Ayrıca kolostrum enjekte edilen ve edilmeyen infantil sıçanların genital organlarının makroskopik muayenesinde, enjeksiyon yapılanlarda konjesiyon, hiperemi, kan damarları genişlemesi, dolgunlaşması görülmüş, ebatlarının ise deneme grubuna nazaran iki üç misli arttığı saptanmıştır.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Sıçan yavrularının vajen dış kanalı en erken 28-30 günlükten sonra açıldığı için⁴, araştırmada kullanılan 22 günlük infantil sıçanlardan vaginal smear alınmadığından, kolostrumun kızgınlığı oluşturma işlevini önceki çalışmada olduğu gibi vaginal smear'in histolojik muayenesi ile değil, kolostrum'un ovariumlarda oluşturduğu follikülasyonun derecesine ve Graff folliküllerinin sayısına bakarak saptamak gerekmiştir.

Tüm memeli hayvanlarda olduğu gibi sıçanlarda da ovariumlarda gelişen folliküller ve bunların içinde yer alan oocyteler, normal siklik durumda, hayvanın ovipar ya da multipar olmasına göre doğuracağı yavru sayısı kadar Graff follikülü ya da ovuma dönüşür. Oysaki hemen her siklusun başında çok sayıda primordial follikül gelişerek gelişen ya da sekonder follikül oluşur, ancak bunlardan sadece o hayvanın doğuracağı yavru sayısı kadar sekonder follikül tertier ve Graaf follikülüne dönüşür, ötekiler atresiye uğrarlar. İşte primer folliküllerin sekonder folliküllere dönüştüğü sırada yani folliküllerin Gonadotropinlerin etkisinde bulunduğu dönemde, kandaki normal gonadotropik hormonlara ilave olarak dışarıdan enjeksiyon

suretiyle hormon ya da bu çalışmada olduğu gibi içinde gonadotropinler ve prostaglandin'lerin olduğu bilinen inek kolostrum'u verildiğinde daha çok sayıda sekonder follikül tersiyer folliküle dönüşerek, daha fazla Graaf follikülünün oluşması ve sonuçta daha yüksek miktarda östrojenin etkimesi sonucu kızgınlık oluştuğu görülmektedir³. Nitekim, bu çalışmada da deney grubunda kolostrum enjekte edilen sıçanların ovariumlarında, kontrol grubunda sadece serum fizyolojik enjekte edilen sıçanların ovariumlarındaki Graaf folliküllerinden ortalama 2 katı fazla sayıda Graaf follikülü saptanması bu olguyu doğrulamaktadır (Tablo: I). Tablodan da görüleceği gibi kontrol grubu sıçanların ovarium'larından hazırlanan preparatlarda ortalama 3 Graaf follikülü saptanmasına karşın, deneme grubundaki sıçanların ovarium'larından hazırlanan preparatlarda ortalama 5.7 Graaf follikülü sayılmıştır.

Sonuç olarak;

- 1- İnek kolostrumu enjeksiyonunun, infantil sıçanlarda ovariumları etkileyerek oluşan Graaf follikülü sayısını arttırdığı ve kızgınlığı oluşturduğu;
- 2- İleride büyük memeli hayvanlarda, öncelikle koyunlarda yapılacak bu türden çalışmalarla inek kolostrumunun, hem kızgınlık hem de sinkronizasyon oluşturma oranının saptanmasının zorunlu bulunduğu;
- 3- Bu çalışmaların devamı olarak ergin ve infantil dişi sıçanlara inek kolostrumu enjekte edilmesi sonucu kızgınlığın oluşmasını takiben, erkek sıçan katılarak birleştirilmeleri suretiyle dölvriminin saptanmasının gerekliliği;
- 4- Dişi sıçanlar yanında erkek sıçanlarda da kolostrum'un spermatogenezis üzerine etkisinin araştırılmasının yerinde olacağı anlaşılmıştır.

KAYNAKLAR

1. ERKOÇAK, A.: Özel Histoloji. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları, Sayı 389, Ankara Üniversitesi Basımevi (1980).
2. GÖKÇEN, H. et al.: İnek kolostrumunun sıçanlarda kimi cinsel etkinlikler üzerine etkisi, I - İnek kolostrumunun erişkin sıçanlarda östrus sinkronizasyonu oluşturma işlevi üzerinde çalışmalar (Baskıda) (1985).
3. HAFEZ, E.S.E.: Reproduction in Farm Animals. Lea-Febiger, Philadelphia (1980).
4. RUGH, R.: The Mouse. Its reproduction and development. Burgess Publ. Com. Minneapolis (1968).